

FR 04/1505



REC'D 24 SEP 2004
WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

## COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 18 JUIN 2004

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

### DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

INSTITUT  
NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ

SIEGE  
26 bis, rue de Saint-Petersbourg  
75800 PARIS cedex 08  
Téléphone : 33 (0)1 53 04 53 04  
Télécopie : 33 (0)1 53 04 45 22

BEST AVAILABLE COPY

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**  
**page 1/2**



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 540 @ W / 030103

<b>REMISE DES PIÈCES</b> DATE <b>19 JUIN 2003</b> LIEU <b>75 INPI PARIS</b> N° D'ENREGISTREMENT <b>0307388</b> NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE PAR L'INPI <b>19 JUIN 2003</b>		<b>1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE À QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE</b>  <b>Cabinet REGIMBEAU</b> <b>20, rue de Chazelles</b> <b>75847 PARIS CEDEX 17</b> <b>FRANCE</b>	
<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b> <b>240540 D21175 MAB</b>			
<b>Confirmation d'un dépôt par télécopie</b>		<input type="checkbox"/> N° attribué par l'INPI à la télécopie	
<b>2 NATURE DE LA DEMANDE</b>		Cochez l'une des 4 cases suivantes	
Demande de brevet		<input checked="" type="checkbox"/>	
Demande de certificat d'utilité		<input type="checkbox"/>	
Demande divisionnaire		<input type="checkbox"/>	
<i>Demande de brevet initiale</i> <i>ou demande de certificat d'utilité initiale</i>		N° _____ N° _____	Date _____ Date _____
Transformation d'une demande de brevet européen <i>Demande de brevet initiale</i>		<input type="checkbox"/>	N° _____ Date _____
<b>3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)</b> <b>EXTRAIT DE MACA ET COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN TBL EXTRAIT.</b>			
<b>4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE LA DATE DE DÉPÔT D'UNE DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE</b>		Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ Pays ou organisation _____ N° _____ Date _____ <input type="checkbox"/> <b>S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</b>	
<b>5 DEMANDEUR (cochez l'une des 2 cases)</b>		<input checked="" type="checkbox"/> <b>Personne morale</b> <input type="checkbox"/> <b>Personne physique</b>	
Nom ou dénomination sociale		LABORATOIRES EXPANSCIENCE	
Prénoms			
Forme juridique		SOCIETE ANONYME	
N° SIREN		331930081	
Code APE-NAF			
Domicile ou siège	Rue	10, avenue de l'Arche, 92400 COURBEVOIE	
	Code postal et ville		
	Pays	FRANCE	
Nationalité		Française	
N° de téléphone (facultatif)		N° de télécopie (facultatif)	
Adresse électronique (facultatif)			
<input type="checkbox"/> <b>S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»</b>			

Réservé à l'INPI

REMISE DES PIÈCES

DATE

**19 JUIN 2003**

LIEU

**75 INPI PARIS**

N° D'ENREGISTREMENT

**0307388**

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DB 540 W / 030103

**6 MANDATAIRE**

Nom

240540 MAB

Prénom

Cabinet ou Société

Cabinet REGIMBEAU

N° de pouvoir permanent et/ou  
de lien contractuel

Adresse

Rue

20, rue de Chazelles

Code postal et ville

75847 PARIS CEDEX 17

Pays

N° de téléphone (facultatif)

01 44 29 35 00

N° de télécopie (facultatif)

01 44 29 35 99

Adresse électronique (facultatif)

info@regimbeau.fr

Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques

**7 INVENTEUR(S)**

Les demandeurs et les inventeurs  
sont les mêmes personnes

☐ Oui

☒ Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)

**8 RAPPORT DE RECHERCHE**

Établissement immédiat  
ou établissement différé

☒

☐

Paiement échelonné de la redevance  
(en deux versements)

Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt

☐ Oui

☐ Non

**9 RÉDUCTION DU TAUX  
DES REDEVANCES**

Uniquement pour les personnes physiques

☐ Requête pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition)

☐ Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la  
décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG

**10 SÉQUENCES DE NUCLEOTIDES  
ET/OU D'ACIDES AMINÉS**

☐ Cochez la case si la description contient une liste de séquences

Le support électronique de données est joint

☐

La déclaration de conformité de la liste de  
séquences sur support papier avec le  
support électronique de données est jointe

☐

Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite»,  
indiquez le nombre de pages jointes

**11 SIGNATURE DU DEMANDEUR  
OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

04.06.2003

0307388

**VISA DE LA PRÉFECTURE  
OU DE L'INPI**

MME BLANCANEUX

La présente invention concerne un procédé d'extraction de maca, l'extract obtenu, une composition cosmétique le contenant ainsi que son utilisation à titre d'agent cosmétique anti-âge.

5

Le nom botanique de la maca est le *Lepidium meyenii* Walp. Parmi ses noms vernaculaires on peut encore citer en anglais : maca, peruvian ginseng, quechua ; en espagnol : maca, maka, maca-maca et en kechua : ayak  
10 chichica, ayak willku, maka. Elle appartient à la famille des Brassicaceae (Cruciferae) de la Tribu Lepidieae.

La maca est une petite plante herbacée de 12 à 20 cm de  
15 haut. Sa partie souterraine mesure de 2 à 5 cm. Elle comprend une racine pivot surmontée de la partie basse d'un hypocotyle élargi et charnu. A l'état sec, l'ensemble rappelle la forme d'un petit navet. Pour simplifier, la partie souterraine de la plante qui  
20 constitue la fraction employée sera dénommée "tubercule".

Les feuilles forment une rosette et se renouvellent depuis son centre. Les petites fleurs sont autogames. Le fruit est une petite silique (4 à 5 mm) à deux  
25 valves comprenant chacune une graine.

La Maca et les autres *Lepidium* sauvages botaniquement proches sont localisées jusqu'à présent dans quelques zones montagneuses de la cordillère des Andes (Pérou,  
30 Bolivie, Equateur). Ces plantes sont capables de supporter des gelées même au cours de leur période de croissance. Considérées longtemps comme des plantes "à

jour court" en raison de leur habitat, des travaux relatifs à leur photopériodisme ont révélé que leur croissance est similaire dans des conditions de jours courts et de jours longs.

5

La plante présente un comportement annuel lorsque les conditions climatiques lui sont favorables (sol suffisamment humide et température tempérée). Son cycle végétatif est alors de 11 mois. Elle devient  
10 bisannuelle en climat de haute montagne en conservant sa partie souterraine en dormance pendant la saison sèche.

La Maca fut probablement "domestiquée" à San Blas au  
15 Pérou, il y a 1300 à 2000 ans. Depuis, sa culture a toujours été confinée aux montagnes centrales du Pérou entre 3 500 et 4 500 mètres d'altitude dans les départements du Junin et du Pasco. Les zones de culture les plus importantes sont concentrées autour du lac de  
20 Junin. Moins restreintes autrefois, elles s'étendaient jusqu'à Cusco et le lac Titicaca. Dans ces contrées, les basses températures et les vents violents limitent fortement d'autres cultures en dehors de la pomme de terre.

25

La maca est actuellement cultivée dans de petites parcelles de 500 m<sup>2</sup> selon des méthodes très artisanales. Les graines sont semées au début de la période des pluies en septembre-octobre. Les tubercules  
30 sont habituellement récoltés 8 à 10 mois après semis. La récolte commence en mai-juin. Après récolte, les tubercules sont laissés sécher au soleil pendant 6 à 15

jours. Ils seront conservés à l'abri de la lumière et de l'humidité en attendant d'être consommés. Les tubercules se conservent bien.

5 Les principaux résultats d'analyse de la composition chimique de la maca ont été publiés par Dini et al. en 1994 (Dini A., Migliuolo G., Rastrelli L., Saturnino P., Schettino O. Chemical composition of *Lepidium meyenii*. Food chemistry, 1994, 49, 4, pp. 347-349  
 10 (eng)) puis par Comas et al. en 1997 (Comas M., Miquel X., Arias G., de la Torre M.C. Bromatological studies on *Lepidium meyenii*. Alimentaria (Madrid), 1997, 286, pp. 85-90 (spa)) :

15 - humidité : 10 à 20 %

- matières minérales les plus intéressantes (mg/ 100 g) :

20 - Potassium 1150 à 2050  
 - Calcium 150 à 260  
 - Fer 3 à 16  
 - Cuivre 0.2 à 6  
 - Zinc 1.5 à 6  
 25 - Aluminium 3 à 7

- Glucides : 60 à 65 %  
 - amidon 30 à 35 %  
 - Saccharose 3 à 20 %  
 30 - Fructose 8 à 10 %  
 - Glucose 3 à 7 %

- Fibres : 4 à 8 %

35 - Protéines : 10 à 14 %

- Lipides : 0,5 à 2 %

La maca est traditionnellement utilisée comme aliment,

mais aussi pour ses propriétés thérapeutiques.

La valeur nutritive du tubercule de la maca, proche de  
céréales classiquement utilisées en alimentation, en  
5 fait un aliment de choix et d'intérêt majeur pour les  
populations de haut plateaux péruviens.

Le tubercule de la maca est employé depuis des  
centaines d'années en usage populaire à des fins  
10 médicinales pour augmenter la fertilité des animaux et  
des êtres humains (Leon J., The maca (*Lepidium  
meyenii*), a little-known food plant of Peru. Economic  
botany, 1964, 18, 2 pp. 122-127 (eng)).

Les Kallawaya, guérisseurs itinérants des Andes,  
15 prescrivait aux femmes stériles désirant être  
fécondées, le tubercule frais découpé en fines  
rondelles, en décoction, trois ou quatre jours après  
les dernières règles (Girault L. Kallawaya. Guérisseurs  
itinérants des Andes. ORSTOM éd., Paris, 1984, pp. 218-  
20 219 (fra)).

De nos jours, la popularité de la maca s'accroît en  
raison des propriétés stimulantes et aphrodisiaques qui  
lui sont attribuées. Le tubercule de la maca est  
25 apparenté (abusivement en raison d'un marché potentiel  
prometteur), au ginseng (*Panax ginseng*) d'où son nom de  
ginseng péruvien.

Parmi les autres utilisations du tubercule figurent son  
30 intérêt en cas de troubles respiratoires (tuberculose),  
fatigue chronique, troubles de la mémoire, symptômes de  
la ménopause, en cures lors de crises rhumatismales,

etc

Le but de la présente invention est de proposer un extrait de maca permettant de stimuler le métabolisme et la prolifération des fibroblastes pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané chronologique, extrinsèque (soleil, tabac, pollution, stress) et ménopausique.

En effet, le vieillissement cutané est notamment caractérisé par une diminution du nombre, ainsi que de l'activité des fibroblastes.

En effet, la maca brute, qui se présente généralement sous la forme d'une poudre déshydratée, est quasiment insoluble dans l'eau. De ce fait, son utilisation dans les produits de soins cosmétiques est difficilement envisageable en l'état. Par ailleurs, la biodisponibilité des molécules constitutives du végétal (sels minéraux, glucides, protéines, vitamines, ...) est quasi nulle par voie cutanée.

Ainsi l'invention concerne un extrait peptidique de maca, totalement hydrosoluble, son procédé d'obtention, les compositions cosmétiques le contenant ainsi que leur utilisation en tant qu'actif anti-vieillessement.

L'extrait peptidique peut être liquide ou solide suivant si l'extrait a subi une lyophilisation ou non en deuxième étape du procédé d'obtention.

30

Le vieillissement cutané peut se manifester notamment par l'affaiblissement des tissus, la diminution de



l'épaisseur de la peau ou encore par l'apparition de rides ou ridules.

Plus particulièrement, l'invention a pour objet un  
5 procédé de préparation d'un extrait peptidique aqueux de maca, caractérisé en ce qu'il est effectué à partir de farine de tubercules de maca broyés, en ce qu'il comprend au moins une étape d'hydrolyse enzymatique des protéines.

10

L'hydrolyse est de préférence enzymatique. L'hydrolyse enzymatique peut notamment être menée avec un mélange amylase et protéase. De préférence, le ratio  
15 amylase/protéase est compris entre 50/50 et 90/10 de préférence entre 75/25 et 85/15 afin de transformer la fraction protéique du végétal, en peptides hydrosolubles.

L'extrait aqueux ainsi obtenu peut ensuite être  
20 concentré pour éliminer les insolubles tels que les fibres.

Selon une variante du procédé de l'invention, l'extrait aqueux peut ensuite être purifié par ultrafiltration afin d'extraire les éventuelles traces de protéines  
25 résiduelles. Dans ce cas, on choisira avantageusement un seuil de coupure de 10 kD de sorte à conserver les peptides présentant un poids moléculaire inférieur à 10 kD.

30 Ainsi, selon une variante préférée de l'invention, le procédé comprend les étapes suivantes :

- un lavage et un séchage sous courant d'air chaud,

- (par exemple à 60 °C) des tubercules de maca,
- le broyage des tubercules de maca en une farine fine,
  - la mise en suspension dans l'eau de la farine, 5  
avantageusement entre 1 et 25% en poids,
  - l'hydrolyse des protéines en présence d'une protéase et d'une amylase par exemple dans un rapport 80/20.
  - une centrifugation pour éliminer les insolubles 10  
(fibres),
  - une étape d'ultrafiltration de la solution (avantageusement seuil de coupure 10 kD),
  - éventuellement suivie par une étape de concentration en matière sèche par diafiltration 15  
(avantageusement 100 Da) et/ou une étape d'évaporation contrôlée,
  - et enfin éventuellement suivie par une étape de filtration stérilisante (préférentiellement sur une cartouche de 0,2  $\mu$ m).

20

L'invention a en outre pour objet un extrait peptidique aqueux de maca susceptible d'être obtenu par le procédé décrit ci-dessus selon toutes ses variantes.

25 Cet extrait peptidique aqueux de maca présente avantageusement une teneur en matière sèche comprise entre 1 et 300 g/l, de préférence entre 2 et 10 g/l.

Par rapport à la matière sèche, la teneur en sucres 30 réducteurs pourra être comprise entre 2 et 70 % et de préférence entre 35 et 45 %. Par sucres réducteurs on

entend des sucres réactifs : ils ont la faculté de donner des électrons à une molécule. On peut citer le glucose, le fructose et le maltose. Historiquement, ce terme vient de la découverte de Fehling au 19<sup>ème</sup> siècle qui prouva que certains sucres réagissaient avec des ions cuivriques pour les transformer en ions cuivreux. Visuellement, cette réaction dite « de réduction » s'observe par un changement de couleur de la liqueur de Fehling : au départ bleue, elle vire au rouge brique en présence de sucres réducteurs.

Le pH d'une solution à 20 g/l de matière sèche pourra être compris entre 5 et 8, de préférence entre 6 et 7.

De plus, l'invention a pour objet un procédé de préparation d'un extrait peptidique solide de maca, caractérisé en ce que l'extrait peptidique aqueux, éventuellement concentré et/ou stérilisé est lyophilisé. On obtient autrement dit une poudre solide (extrait sec), qui présente notamment l'avantage d'être hydrosoluble, ce qui n'est pas le cas de la farine de tubercule de maca originelle.

L'invention a aussi pour objet un extrait peptidique solide de maca susceptible d'être obtenu par le procédé décrit ci-dessus.

Cet extrait peptidique solide de maca peut en outre être caractérisé par sa teneur en azote alpha aminé. Elle peut ainsi être comprise entre 2 et 70

De préférence, l'extrait peptidique solide de maca selon l'invention présente la composition en acides aminés suivante (en pourcentage en poids par rapport au

poids total d'acides aminés) :

Alanine	5-9 %
Arginine	15-20 %
Acide aspartique	8-12 %
Cystine-cysteine	< 2 %
Acide glutamique	9-15 %
Glycine	3-7 %
Histidine	1-6 %
Isoleucine	2-7 %
Leucine	4-9 %
Lysine	3-7 %
Methionine	1-5 %
Phenylalanine	4,9
Proline	< 1 %
Sérine	2-8 %
Thréonine	1-7 %
Tyrosine	1-7 %
Valine	4-10 %
Tryptophane	< 0,5 %

L'invention a également pour objet une composition  
 5 cosmétique caractérisée en ce qu'elle comprend un  
 extrait peptidique aqueux ou solide de maca tel que  
 décrit précédemment et au moins un excipient  
 cosmétiquement acceptable.

10 Une telle composition cosmétique peut être notamment  
 destinée à lutter contre le vieillissement cutané.  
 L'invention a donc aussi pour objet une méthode de  
 traitement cosmétique comprenant l'application d'une

telle composition sur la surface cutanée d'un individu. Enfin, l'invention a pour objet l'utilisation d'un extrait peptidique aqueux ou solide selon l'invention en tant qu'actif anti-vieillessement. Plus  
5 particulièrement, cet extrait aqueux ou solide peut être utile pour stimuler le métabolisme cellulaire à savoir l'activité mitochondriale et notamment les fibroblastes dermiques. De même, cet extrait aqueux ou solide peut être utile pour stimuler l'énergie  
10 cellulaire. Par « énergie cellulaire » on entend le réservoir d'énergie dans lequel la cellule puise pour réaliser l'ensemble de ses activités vitales (notamment mitose, croissance, synthèse des macromolécules, réparation de l'ADN). Enfin il peut être utile pour  
15 lutter contre les agressions extérieures de type soleil, tabac, pollution ou stress.

L'invention est maintenant illustrée par les exemples de réalisation décrits ci-après.

20

**EXEMPLE 1** : préparation d'un extrait

10 kg de farine de maca sont dispersés dans 80 litres d'eau déminéralisée, en présence de 0,25 kg d'amylase.  
25 Le mélange est maintenu à 50 °C, pendant 5 heures, à pH constant de 5.

Dans une seconde étape, 0,25 kg de protéase Alcalase® commercialisé par la société Novo Nordisk sont ajoutés.  
30 Le mélange est alors maintenu à 60°C, pendant 1 heures, à pH constant de 8.

Les enzymes hydrolytiques sont ensuite dénaturées par chauffage à 90°C, pendant 20 minutes.

Le mélange est centrifugé à 5500 tr/min en présence  
5 d'un adjuvant argileux de filtration puis filtré sur des toiles de 1 µm pour être clarifié.

Le solution récupérée est alors ultrafiltrée (seuil de  
coupure 10 kD), le filtrat concentré par diafiltration  
10 (10 Da) jusqu'à un titre de 10 % en matière sèche, puis filtrée stérilement (0,2 µm).

L'extrait obtenu présente les caractéristiques suivantes :

15

Aspect / Couleur	Solution limpide de coloration jaune
Odeur	Caractéristique
Matière sèche (p/p)	10,4 %
pH en solution à 20g/l	6,8
Absorbance	0,530 à 420 nm 0,093 à 550 nm
Composition par rapport à la matière sèche (p/p)	
Azote alpha aminé	4 %
Azote total	1,7 %
Sucres réducteurs	42 %

- 5 Profil HPLC de l'hydrolysat de farine de maca -  
Répartition des masses moléculaires :

Pic HPLC	Masse molaire moyenne (g/mol)	% relatif
1	1170	38,9
2	360	29,3
3	180	16,2
4	41	15,6

- 10 **EXEMPLE 2** : Activité biologique

*2-1 Effet sur des fibroblastes humains normaux*

**Matériel & Méthode**

- 15 Cellule : modèle de fibroblastes humains normaux  
cultivés en monocouche.

Traitement : Les cellules ont été cultivées en  
l'absence (Contrôle) ou en présence de 0,1% de  
l'extrait peptidique obtenu à l'exemple 1.

- 20 Evaluation du métabolisme cellulaire : L'effet de cet  
extrait a été évalué par la mesure de l'activité  
mitochondriale (test au MTT ou 3-(4,5-dimethylthiazole-  
2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide), tous les jours  
pendant une semaine.

### **Résultats**

En moyenne, l'extrait peptidique de maca à la dose de 0,1% stimule le métabolisme des fibroblastes dermiques de 20% par rapport aux cellules contrôles non traitées.

5 La figure 1 illustre la viabilité des cellules cultivées en l'absence (Contrôle) ou en présence d'extrait peptidique de maca.

### **Conclusion**

10 L'extrait peptidique de maca permet de stimuler le métabolisme cellulaire des fibroblastes dermiques.

### **2-2 Effet sur des fibroblastes humains vieilliss artificiellement in vitro**

15

#### **Modèle d'étude**

Nous avons utilisé dans cette étude un modèle de fibroblastes cutanés vieilliss artificiellement *in vitro*, caractérisé par l'utilisation de fibroblastes  
20 issus de chirurgie plastique (femme de 26 ans), et cultivés jusqu'à des passages élevés >p15. En effet, à chaque passage ou dédoublement de population, les fibroblastes :

- a) changent d'apparence et sont plus étalés
- 25 b) se multiplient beaucoup plus lentement en comparaison avec les mêmes fibroblastes utilisés à des passages <p5 et considérés comme « jeunes » (La figure 2 illustre la comparaison des capacités de réplication (division) de fibroblastes « jeunes » (<p5)  
30 et de fibroblastes vieilliss (>p15)).



Le vieillissement artificiel *in vitro* ou phénomène de sénescence répllicative a été mis en évidence par Léonard Hayflick en 1961 (Hayflick L and Moorhead PS. The serial cultivation of human diploid cell strains. Exp Cell Res, 25 : 585-621 1961). Dans un premier temps, Hayflick a montré que les cellules ne peuvent se diviser qu'un nombre de fois limité dès lors qu'elles sont placées en culture, puis a décrit le lien possible entre sénescence répllicative et vieillissement cellulaire (Hayflick L. The limited lifetime of human diploid cell strains. Exp Cell Res, 37). Les cellules disposeraient d'une horloge interne qui influencerait ou qui limiterait directement leurs capacités de division. Cet arrêt programmé de la division cellulaire pourrait être lié à la perte des télomères (extrémités des chromosomes). Une correspondance acceptable entre *in vivo* (perte d'environ 50 paires de base/dédoublément cellulaire) et *in vitro* (perte d'environ 70 paires de base/dédoublément cellulaire) tend à montrer que le modèle de division cellulaire *in vitro* préfigure ce qui se réalise *in vivo*.

### Résultats

Les cellules ont été cultivées pendant 7 jours en présence ou en l'absence d'extrait peptidique de maca à la dose de 0,01%. La viabilité cellulaire a été mesurée par un test au MTT. Les résultats sont exprimés en % de croissance/au premier de jour de culture (j1) selon la formule :  $[(DO_{jX} - DO_{j1}) / DO_{J1}] \times 100$ , avec DO = densité optique mesurée à 570 nm; j = jour de culture.

Dans ces conditions expérimentales, l'hydrolysate de maca, à la dose de 0,01%, permet d'augmenter les capacités de division des fibroblastes « jeunes » (passages < 5), +35 et 40% respectivement à j4 et j7 (Figure 3A), et des fibroblastes « âgés » (> p15), +26 et 29% respectivement à j4 et j7 (Figure 3B). Les figures 3A et 3B sont annexées.

### Conclusion

10

L'hydrolysate de maca en stimulant les capacités prolifératives des fibroblastes « âgés » peut donc compenser la diminution de la population cellulaire dermique liée à l'âge et donc s'opposer au vieillissement cutané intrinsèque.

15

Exemple 3 : exemple de formulation cosmétique crème anti-âge.

### 20 Crème anti-âge

	Aqua	QSP 100
	Isononyl Isononanoate	7,00
25	Di-C12-13 Alkyl Malate	7,00
	Isocetyl Stearate	5,00
	Butylene Glycol	3,00
	Extrait peptidique de maca	
	Aqueux préparé selon l'exemple 1	2,00
30	Dicaprylyl Ether	2,00
	Silanediol Salicylate	2,00
	Arachidyl Alcohol	1,65
	Tromethamine	1,18

	Cetyl Alcohol	1,00
	Glycine	1,00
	Tocopheryl Acetate	1,00
	Behenyl Alcohol	0,90
5	Squalane	0,79
	Sodium Citrate	0,66
	PPG-12/SMDI Copolymer	0,50
	Arachidyl Glucoside	0,45
	Parfum	0,40
10	Sclerotium Gum	0,16
	Cetearyl Alcohol	0,13
	Citric Acid	0,11
	Sepigel 305*	0.10
	Système conservateur	QS

15

\*produit commercialisé par la société Seppic

20

25

30

/

## Revendications

1. Procédé de préparation d'un extrait peptidique aqueux de maca, caractérisé en ce qu'il est effectué à partir de farine de tubercules de maca broyés, en ce qu'il comprend au moins une étape d'hydrolyse enzymatique des protéines.
2. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercules de maca selon la revendication 1, caractérisé en ce que l'hydrolyse est de type enzymatique.
3. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercules de maca selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que l'hydrolyse est menée avec un mélange amylase et protéase.
4. Procédé de préparation d'un extrait peptidique hydrosoluble de tubercule de maca selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que le ratio amylase/protéase varie de 50/50 à 90/10.
5. Procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que l'extrait aqueux est ensuite concentré pour éliminer les insolubles.
6. Procédé selon l'un quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que l'extrait aqueux est ensuite purifié par ultrafiltration.

7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que l'ultrafiltration présente un seuil de coupure de 10 kD.

5 8. Extrait peptidique aqueux de maca susceptible d'être obtenu par le procédé selon l'une quelconque des revendications 1 à 7.

9. Extrait peptidique aqueux de maca selon la  
10 revendication 8, caractérisé en ce qu'il présente une teneur en matière sèche comprise entre 1 et 300 g/l, de préférence entre 2 et 10 g/l.

10. Procédé de préparation d'un extrait peptidique  
15 solide de maca, caractérisé en ce que l'extrait peptidique aqueux selon la revendication 8 ou 9, éventuellement concentrée et/ou stérilisée est lyophilisé.

20 11. Extrait peptidique solide de maca susceptible d'être obtenu par le procédé selon la revendication 10.

12. Extrait peptidique solide de maca selon la  
25 revendication 11, caractérisé en ce que la teneur en azote alpha aminé est comprise entre 2 et 70%.

13. Extrait peptidique solide de maca selon la  
revendication 11 ou 12, caractérisé en ce qu'il présente la composition en acides aminés suivante (en  
30 pourcentage en poids par rapport au poids total d'acides aminés) :

Alanine	5-9 %
Arginine	15-20 %
Acide aspartique	8-12 %
Cystine-cysteine	< 2 %
Acide glutamique	9-15 %
Glycine	3-7 %
Histidine	1-6 %
Isoleucine	2-7 %
Leucine	4-9 %
Lysine	3-7 %
Methionine	1-5 %
Phenylalanine	4,9 %
Proline	< 1 %
Sérine	2-8 %
Thréonine	1-7 %
Tyrosine	1-7 %
Valine	4-10 %
Tryptophane	< 0,5 %

14. Extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13, utile pour la stimulation de la prolifération et la croissance des  
5 cellules cutanées et plus particulièrement des fibroblastes.

15. Extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13, utile pour  
10 stimuler l'activité mitochondriale des cellules cutanées et plus particulièrement des fibroblastes.

16. Composition cosmétique caractérisée en ce qu'elle comprend un extrait peptidique de maca selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13 et au moins un excipient cosmétiquement acceptable.

17. Méthode de traitement cosmétique pour prévenir et/ou lutter contre le vieillissement cutané, caractérisée en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau une composition selon la revendication 16.

18. Méthode de traitement cosmétique pour lutter contre les agressions extérieures, choisies parmi le soleil, le tabac, la pollution et le stress, caractérisée en ce qu'elle consiste à appliquer sur la peau une composition selon la revendication 16.

19. Utilisation d'un extrait selon l'une quelconque des revendications 8 ou 9 et 11 à 13 en tant qu'actif anti-vieillissement.

20. Utilisation selon la revendication 19 pour stimuler le métabolisme cellulaire et notamment des fibroblastes dermiques.

25

21. Utilisation selon la revendication 19 pour stimuler l'énergie cellulaire.

30

1/4

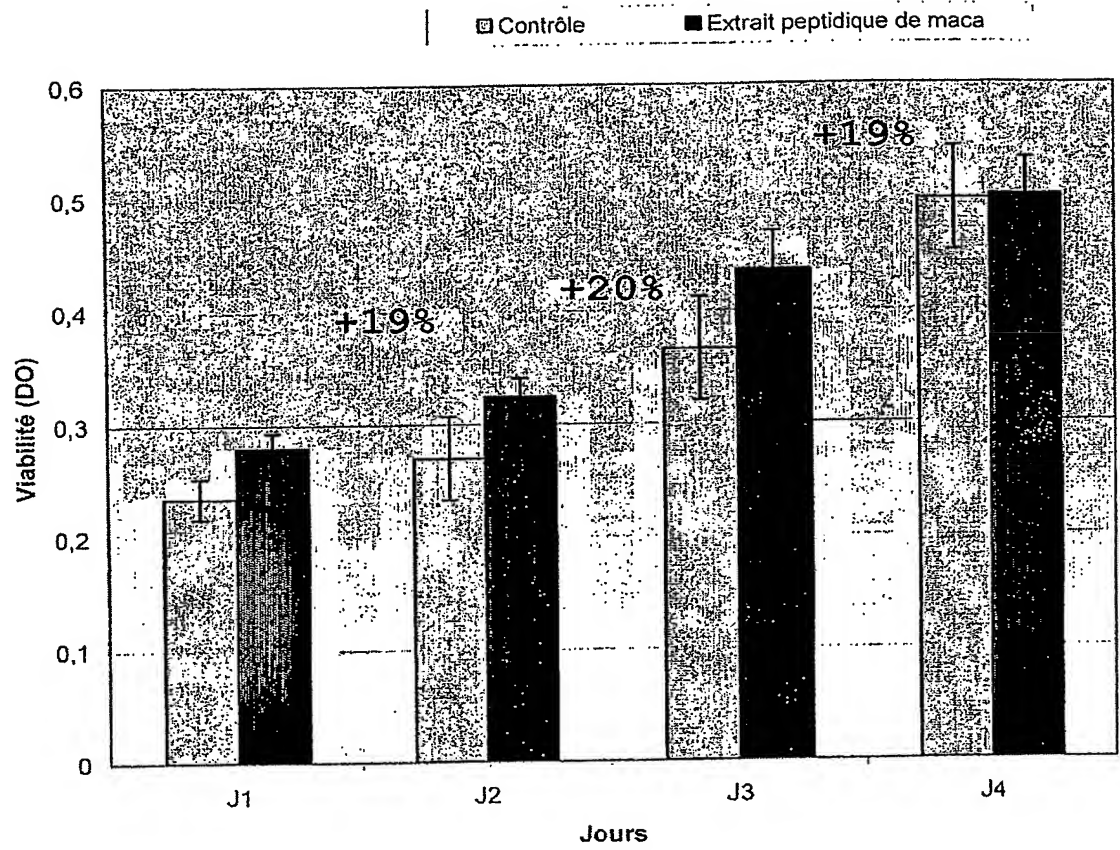


FIGURE 1



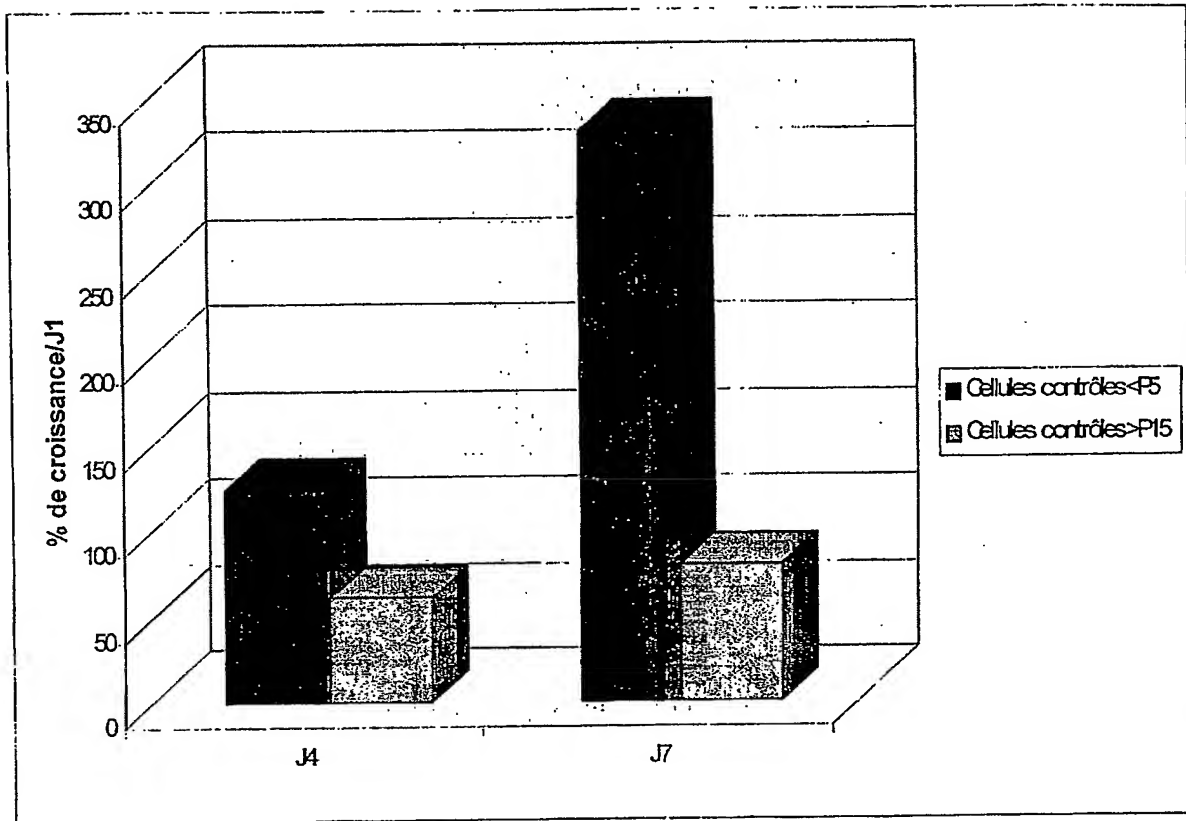
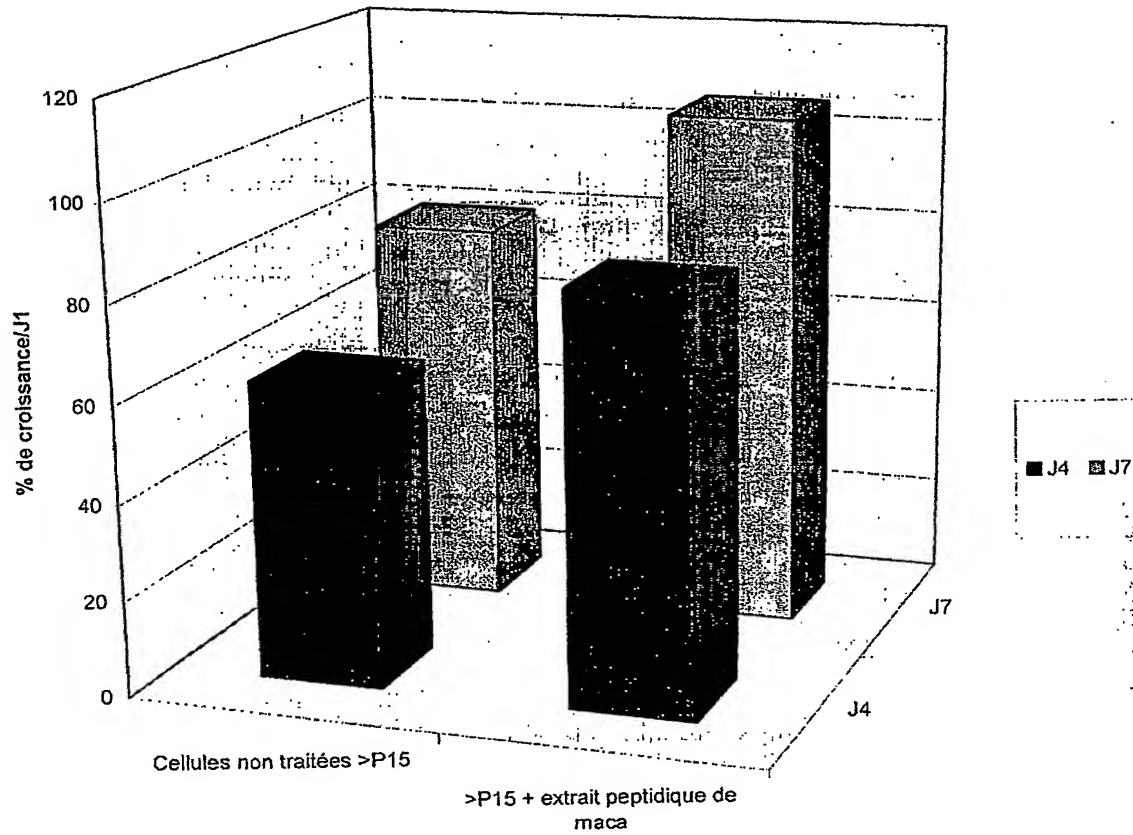
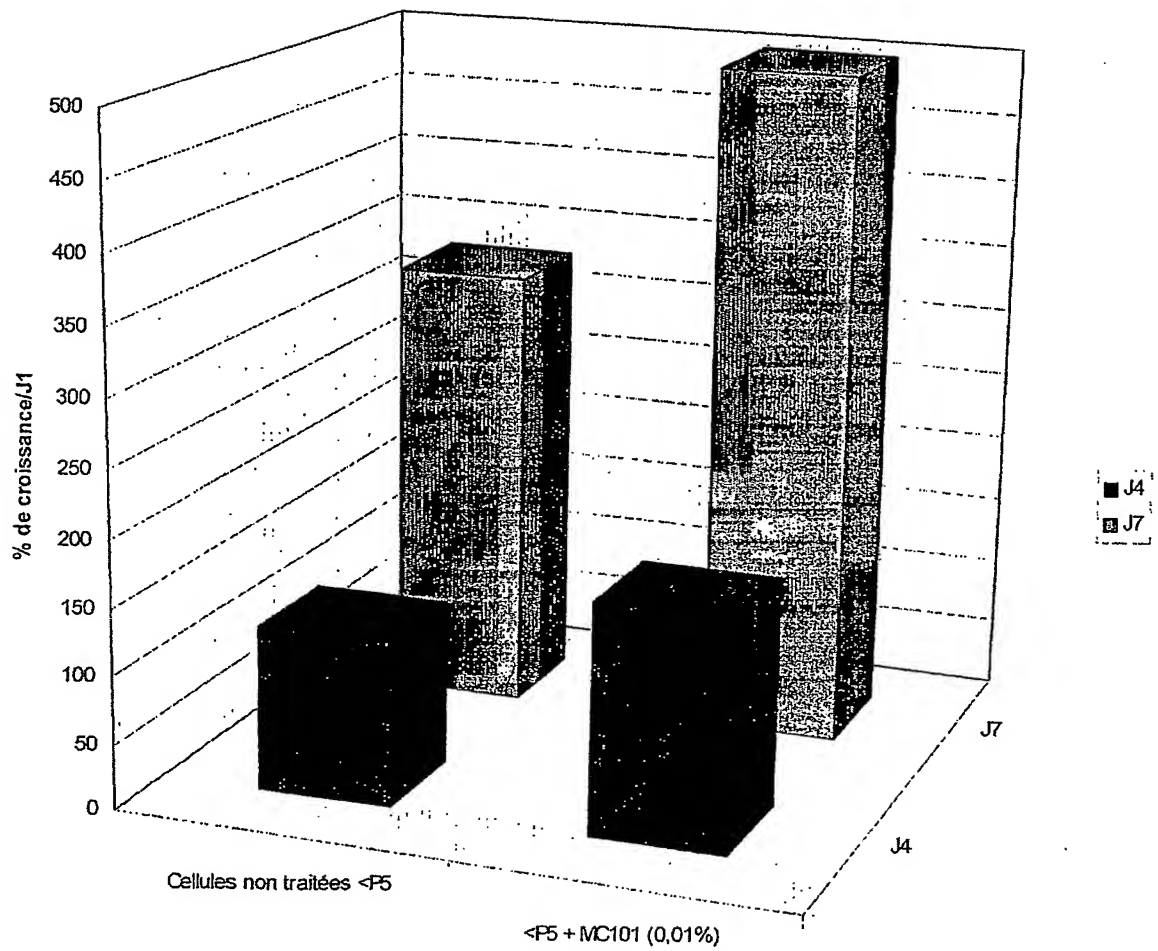


FIGURE 2



A) Fibroblastes « jeunes »

FIGURE 3A



B) Fibroblastes « âgés »

FIGURE 3B

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08

Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1 ... 2/ ...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)	240540 MAB
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	0307388
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)	

EXTRAIT DE MACA ET COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN TEL EXTRAIT.

**LE(S) DEMANDEUR(S) :**

LABORATOIRES EXPANSCIENCE : 10, avenue de l'Arche, 92400 COURBEVOIE - FRANCE

**DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :**

<b>1</b> Nom		PICCARDI Nathalie	
Prénoms			
Adresse	Rue	47, rue Chapotier	
	Code postal et ville	L 78150 SAINT EGREVE FR	
Société d'appartenance (facultatif)			
<b>2</b> Nom		PICCIRILLI Antoine	
Prénoms			
Adresse	Rue	39, avenue des Etats Unis	
	Code postal et ville	L 78000 VERSAILLES FR	
Société d'appartenance (facultatif)			
<b>3</b> Nom		MSIKA Philippe	
Prénoms			
Adresse	Rue	1, Petite Place	
	Code postal et ville	L 78000 VERSAILLES FR	
Société d'appartenance (facultatif)			

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

DATE ET SIGNATURE(S)  
DU (DES) DEMANDEUR(S)  
OU DU MANDATAIRE  
(Nom et qualité du signataire)

*[Signature]* 14.06.2003  
911753

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

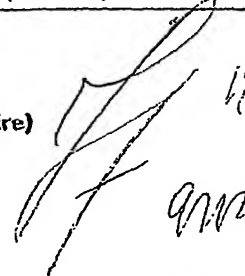
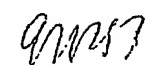
DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° .../...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)



Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)		
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL		0307388
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères en espaces maximum)		
EXTRAIT DE MACA ET COMPOSITION COSMETIQUE COMPRENANT UN TEL EXTRAIT.		
LE(S) DEMANDEUR(S) :		
LABORATOIRES EXPANSCIENCE : 10, avenue de l'Arche, 92400 COURBEVOIE - FRANCE		
DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :		
1	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	PAUL François
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		69, Chemin de Matepère 31400 TOULOUSE FR
2	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
3	Nom	
	Prénoms	
Adresse	Rue	
	Code postal et ville	
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
DATE ET SIGNATURE(S) DU (DES) DEMANDEUR(S) OU DU MANDATAIRE (Nom et qualité du signataire)		
 19.06.2013  19.06.2013		

La loi n°78-17 du 6 janvier 1978 relative à l'informatique, aux fichiers et aux libertés s'applique aux réponses faites à ce formulaire. Elle garantit un droit d'accès et de rectification pour les données vous concernant auprès de l'INPI.

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☐ BLACK BORDERS
- ☐ IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- ☐ FADED TEXT OR DRAWING
- ☐ BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING
- ☐ SKEWED/SLANTED IMAGES
- ☒ COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS
- ☐ GRAY SCALE DOCUMENTS
- ☐ LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT
- ☐ REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY
- ☐ OTHER: \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**